

СОСТОЯНИЕ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ ПРИ РАЗВИТИИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ПЕРИТОНИТА

Гурин С.А., Осочук С.С.

*УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов
медицинский университет»*

Перитонит является самым грозным осложнением, как острых заболеваний брюшной полости, так и операционных вмешательств на

органах брюшной полости (А.Н. Косинец, 1993)). Летальность при распространённом гнойном перитоните составляет 70-100% (В.А. Гологорский и соавт., 1988).

Гнойно-воспалительные осложнения ухудшают результаты хирургического лечения больных и удлиняют сроки пребывания в стационаре. Экономические потери при этом превышают в 2-3 раза сумму, расходуемую при благоприятном течении послеоперационного вмешательства (А.Н. Косинец, 1993).

Учитывая вышеизложенное, изучение этиологии и патогенеза перитонита остаётся актуальным и необходимым.

Цель работы: Изучить процессы перекисного окисления липидов при инфекционном экспериментальном перитоните.

Материал и методы: Исследования проводились на белых беспородных крысах-самцах, средней массой тела 180-200 гр. Перитонит моделировался внутрибрюшинным введением E.Coli (штамм O-26) в количестве 4 миллиарда микробных тел на одно животное. Через 6 часов после введения микроорганизмов у животных развивались симптомы перитонита: вялость, заторможенность, отказ от пищи, учащённое дыхание, вздутие живота. Морфологические исследования перитонеальной жидкости подтверждали наличие перитонита. Через 4,7,24,48 часов животные забивались декапитацией, кровь собиралась в гепаринизированные пробирки. Эритроциты отмывались охлаждённым забуференным физиологическим раствором и обрабатывались в день забоя. Печень извлекали из брюшной полости, отмывали забуференным физиологическим раствором до белого цвета и, до обработки, хранилась в жидком азоте. Об интенсивности перекисного окисления липидов (ПОЛ) судили по накоплению диеновых конъюгатов (ДК) [2] и малонового диальдегида (МДА) [1]. Для оценки состояния антиоксидантной системы, в реакции с реактивом Эллмана определяли количество окисленного, восстановленного и общего глутатиона [6, 7, 10], активность супероксиддисмутазы (СОД), каталазы (КАТ), глутатионредуктазы и глутатионпероксидазы оценивали согласно методам изложенным в работах [3, 8, 9, 11, 12].

Статистическую обработку данных производили с помощью программы STATISTICA 5.0.

Результаты и обсуждение. Неотъемлемой частью цепи патологических процессов при воспалительных заболеваниях и, в том числе при перитоните, является активация процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ). Токсическое действие избыточного количества продуктов ПОЛ клинически проявляется угнетением

синтеза белков и иммунного статуса организма, нарушением деятельности желез внутренней секреции, развитием бронхообструктивного синдрома, токсического гепатита, миокардита и нефрита [5]. В настоящей работе на модели экспериментального перитонита исследовали изменение активности процессов перекисного окисления липидов и активности ферментативной антиоксидантной системы печени и эритроцитов белых беспородных лабораторных крыс.

В ходе проведенных исследований были получены следующие результаты. Через 4 часа после внутрибрюшинного введения культуры E.Coli, относительно интактных животных, отмечалось достоверное снижение количества малонового диальдегида (МДА) печени, которое, вероятно, было обусловлено усилением их утилизации в микросомах и митохондриях [4], поскольку не может быть обусловлено активацией антиоксидантной системы из-за достоверного снижения активности каталазы и глутатионредуктазы при неизменной активности супероксиддисмутазы (СОД) и глутатионпероксидазы. Достоверное снижение количества глутатиона, вероятно, обусловлено его использованием глутатионпероксидазой. Такая точка зрения косвенно подтверждается изменениями ПОЛ в эритроцитах. Эритроциты из-за отсутствия митохондрий и эндоплазматического ретикулума не способны утилизировать МДА, что привело к его достоверному накоплению, а увеличение активности каталазы и глутатионредуктазы не смогли предотвратить его накопления.

Через 7 часов после введения E.Coli отмечается значительное возрастание количества диеновых конъюгатов (ДК) печени; уровень МДА, как и в предыдущий срок исследования, был достоверно ниже интактных животных. Такая картина, вероятно, свидетельствует об активации процессов ПОЛ, компенсируемых увеличением активности СОД и глутатионпероксидазы, что позволяет сохранять количество МДА на прежнем низком уровне. Тенденция к достоверному снижению уровня восстановленного глутатиона обусловлена более низкой активностью глутатионредуктазы. В те же сроки в эритроцитах отмечается увеличение активности СОД и КАТ, что предотвращает накопление продуктов ПОЛ.

Таким образом, в первые часы после внутрибрюшинного введения E.Coli отмечается активация процессов ПОЛ, которые успешно купируются антиоксидантной системой и системой утилизации продуктов ПОЛ.

Через 24 часа после введения E.Coli уровень ДК в печени возвращался к нормальному, а количество МДА оставалось достоверно сниженным. Количество общего глутатиона и окисленного было ниже, а восстановленного – не отличалось от уровня интактных животных. Такая картина, вероятно, обусловлена снижением активности ПОЛ, подавляемого к тому же увеличенной активностью СОД. Снижением активности ПОЛ можно объяснить и уменьшение активности глутатионредуктазы и возвращение к норме активности глутатионпероксидазы. В эритроцитах отмечалось снижение первичных продуктов ПОЛ (ДК) и достоверное увеличение количества их конечных продуктов (МДА). Описанные изменения происходили на фоне увеличения активности СОД, каталазы и глутатионредуктазы.

Через 48 часов после инфицирования отмечалась нормализация продуктов ПОЛ в печени, что может быть обусловлено увеличенной активностью глутатионпероксидазы достоверно снизившей уровень общего глутатиона. Нормализация ДК, как одного из начальных продуктов ПОЛ, вероятно, обусловлена снижением интенсивности процессов инициации ПОЛ, чем может также объясняться нормализация активности СОД. Возвращение к показателям интактных крыс величины МДА, как одного из конечных продуктов ПОЛ, может быть обусловлено инактивацией гидроперекисей под действием глутатионпероксидазы.

В эритроцитах через 48 часов уровень ДК нормализовался, что может быть обусловлено сохраняющейся высокой активностью СОД, однако уровень МДА оставался достоверно выше, чем у интактных животных.

Заключение. Сравнение процессов ПОЛ печени и эритроцитов показывает, что в печени более активно накапливаются ранние продукты ПОЛ (ДК), в то время как в эритроцитах более активно накапливаются поздние продукты МДА. Такие отличия могут свидетельствовать о более выраженных деструктивных процессах в мембранах эритроцитов, по сравнению с печенью при развитии инфекционного воспалительного процесса.

Литература:

1. Андреева Л.И., Кожемякин Л.А., Кишкун А.А., Модификация метода определения перекисей липидов в тесте с тиобарбитуровой кислотой. //Лаб. Дело 1988, №11 с.41-43. (МДА)
2. Гарилев В.Б., Гаврилова А.Р., Хмара Н.Ф., Измерение диеновых конъюгатов в плазме по ультрафиолетовому поглощению гептановых и изоприльных экстрактов. // Лаб. Дело 1988. №2 с.60-64. (ДК)
3. Королюк М.А., Иванова Л.И., Маморова И.Г., Токарев В.Е. Метод определения активности каталазы // Лаб. Дело 1988. №1 с. 16-19(кат)

4. Козлов Ю.П., Данилов В.С., Коган В.Е., Ситковский М.В. Свободнорадикальное окисление липидов в биологических мембранах. Изд. МГУ 1972. с.7
5. Крайник И.В., Орлов С.Д. Перекисное окисление липидов при гнойно-воспалительных заболеваниях мягких тканей. // Здравоохранение Казахстана. - 1987. №8. – с.36-37
6. Петрунькина А.М., Определение глутатиона в крови. // Практическая биохимия – МЕДГИЗ Ленинград. Отд. 1961. (ГЛУТ)
7. Практикум по биохимии. Изд. МГУ. – 1989. с. 509 (ГЛУТ)
8. Юсупов Л.Б. О повышении точности измерения глутатионредуктазы эритроцитов // Лаб. Дело – 1989, №1. – с.19-21
9. Beachamp C., Fridovich J. Superoxide dismutase: improved assays and applicable acrylamide gels // Analyt Biochem. – 1971. – vol.44, №1. – p. 276-287. (СОД)
10. Ellman G.L. Tissue sulfhydryl groups // Arch. Biochem. Biophys. – 1959. vol.82. – p. 70 (ГЛУТ)
11. Hateman D.G., Sunde R.E., Noekstra W.G. Effect of dietary selenium on erythrocyte and liver glutathione peroxidase in the rat // Nutrition – 1974. – Vol.104. №5. p580-587.
12. Ohyashiki T., Ohtsuka T., Mohri T. Increase in molecular rigidity of the protein conformation in the intestinal brush-border membranes by lipid peroxidation // Biochem. And Biophys. Acta: Biomembranes. – 1988. Vol.939(M157), №2 - p.383-392.